

SKRIPSI

**SENSITIVITAS BAKTERI *Staphylococcus aureus*
ISOLAT DARI SUSU MASTITIS TERHADAP
BEBERAPA ANTIBIOTIKA**



Oleh :
HANNA SHOFIANA PUTRI
NIM. 061311133090

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2017**

**SENSITIVITAS BAKTERI *Staphylococcus aureus* ISOLAT DARI SUSU
MASTITIS TERHADAP BEBERAPA ANTIBIOTIKA**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

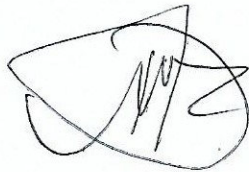
Oleh

HANNA SHOFIANA PUTRI

NIM 061311133090

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Suryanie Sarudji, M.Kes., drh.)

Pembimbing Utama



(Suryo Kuncorojakti, drh., M.Vet.)

Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul:

Sensitivitas Bakteri *Staphylococcus aureus* Isolat dari Susu Mastitis Terhadap Beberapa Antibiotika

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 21 Juli 2017



Hanna Shofiana Putri
NIM. 061311133090

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal: 4 Agustus 2017

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.

Sekretaris : Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.

Anggota : Dr. Dadik Rahardjo, drh., M.Kes.

Pembimbing Utama : Suryanie Sarudji, drh., M.Kes.

Pembimbing Serta : Suryo Kuncorojakti, drh., M.Vet.

Telah diuji pada

Tanggal: 15 Agustus 2017

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.

Anggota : Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.

Dr. Dadik Rahardjo, drh., M.Kes.

Suryanie Sarudji, drh., M.Kes.

Suryo Kuncorojakti, drh., M.Vet.

Surabaya, 16 Agustus 2017

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Surabaya,

Dekan



Prof. Dr. Pudji Sianto, drh., M.Kes.

NIP. 195601051986011001

SENSITIVITY OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLATED FROM MILK MASTITIS TO SOME ANTIBIOTICS

Hanna Shofiana Putri

ABSTRACT

The purpose of this study was to detect *Staphylococcus aureus* from cow's milk suffering from mastitis and whether that *Staphylococcus aureus* are sensitive to some antibiotics or not. Milk samples were taken in farm at Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet, then *Staphylococcus aureus* were isolated and identification. Samples were inoculated on MSA media and incubated at 37 °C for 24 hours. Yellow colonies were growing on the media would be identification by many tests such each catalase test and coagulase test. And then research was continued by antibiotic sensitivity test which using amount of 3×10^6 bacteria per ml. Bacteria was spreaded on the surface of MHA media and put four kinds of antibacterial discs on it, clear zone found around the discs as indicated that bacteria were not able to grow. Antibacterial were used including Doxycycline 30 µg, Gentamicin 10 µg, Penicillin 10 units, and Erytromycin 15 µg. The result of this study were Penicillin antibiotics resistant to *Staphylococcus aureus*, Doxycycline, Gentamicin, and Erytromycin are still sensitive.

Keywords: Milk, *Staphylococcus aureus*, mastitis, antibiotics.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul **Sensitivitas Bakteri *Staphylococcus aureus* Isolat dari Susu Mastitis Terhadap Beberapa Antibiotika** dengan baik.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Pudji Sianto, drh., M.Kes. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Bapak Suryanie Sarudji, M.Kes., drh. selaku pembimbing pertama sekaligus pembimbing penelitian dan Bapak Suryo Kuncorojakti, drh., M.Vet. selaku pembimbing serta terima kasih atas saran dan bimbingannya sampai dengan selesainya skripsi ini.

Terima kasih kepada Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH selaku ketua penguji, Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes. selaku sekretaris penguji, dan Dr. Dadik Rahardjo, drh., M.Kes. selaku anggota penguji yang telah membantu dalam penyempurnaan skripsi ini.

Dr. Moch. Zainal Arifin, MS., drh. selaku dosen wali terima kasih atas bimbingan, dukungan dan nasihat yang membangun selama ini dan seluruh staff pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan, bimbingan dan motivasi selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Ayah dan ibu tercinta, Suwandi dan Herdin Narsih, kedua saudara penulis Ahnaf Maulana Putra dan Ahmad Irfandi Putra serta segenap keluarga besar terima kasih telah memberikan bantuan doa, semangat, motivasi, dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini.

Terima kasih kepada Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet, Bapak Naskat selaku ketua kelompok ternak Desa Cepokolimo, Bapak Yoyok selaku tenaga kesehatan hewan, dan seluruh warga Desa Cepokolimo atas semua bantuan yang telah diberikan dalam proses pengambilan sampel penelitian. Teman penelitian penulis Hefi Choirun Nisa terima kasih atas kerjasamanya dalam menyelesaikan penelitian ini. Semua pengurus KMPV TB 2016 terutama pengurus angkatan 2013. Sahabat Dekat Penulis Cristy Dwi Putri, Chairanir Rofi'ah, Mamdukhah Maharani, Nucifera Fadhillah Santoso, Ade Irma Diana, serta teman-teman lainnya seperjuangan FKH angkatan 2013 yang tidak bisa disebutkan satu persatu terima kasih atas bantuan doa dan semangatnya dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca agar skripsi ini bisa lebih baik lagi. Semoga hasil dalam skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Surabaya, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN | ii |
| HALAMAN PERNYATAAN | iii |
| HALAMAN IDENTITAS | iv |
| ABSTRACT | vi |
| UCAPAN TERIMA KASIH | vii |
| DAFTAR ISI | ix |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG | xiv |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3. Landasan Teori | 3 |
| 1.4. Tujuan Penelitian | 5 |
| 1.5. Manfaat Penelitian | 5 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1. Susu | 6 |
| 2.1.1. Pengertian Susu | 6 |
| 2.1.2. Komposisi Susu | 6 |
| 2.2. Mastitis | 8 |
| 2.2.1. Pengertian Mastitis | 8 |
| 2.2.2. Penyebab Mastitis | 8 |
| 2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> | 9 |
| 2.4. Antibiotika | 10 |
| 2.4.1. Doxycycline | 10 |
| 2.4.2. Gentamisin | 11 |
| 2.4.3. Penisilin | 11 |
| 2.4.4. Eritromisin | 12 |
| BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN | 13 |
| 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian | 13 |
| 3.2. Bahan dan Materi Penelitian | 13 |
| 3.2.1. Bahan Penelitian | 13 |
| 3.2.2. Alat Penelitian | 13 |
| 3.3. Metode Penelitian | 14 |
| 3.3.1. Pengambilan Sampel | 14 |
| 3.3.2. Isolasi dan Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> | 14 |
| 3.3.3. Pembuatan Suspensi <i>Staphylococcus aureus</i> | 15 |
| 3.3.4. Uji Sensitivitas | 16 |

| | | |
|----------------|-------------------------------|----|
| 3.4. | Pembacaan Hasil | 17 |
| 3.5. | Variabel Penelitian | 17 |
| 3.5.1. | Variabel Bebas | 17 |
| 3.5.2. | Variabel Tergantung | 17 |
| 3.5.3. | Variabel Terkendali | 17 |
| 3.6. | Analisis Data | 17 |
| 3.7. | Diagram Alur Penelitian | 18 |
| BAB 4 | HASIL PENELITIAN | 19 |
| BAB 5 | PEMBAHASAN | 24 |
| BAB 6 | KESIMPULAN DAN SARAN | 28 |
| 6.1. | Kesimpulan | 28 |
| 6.2. | Saran | 28 |
| RINGKASAN | | 29 |
| DAFTAR PUSTAKA | | 31 |
| LAMPIRAN | | 34 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|----------------|
| 3.1. Clinical and Laboratory Standards Institute | 17 |
| 4.1. Hasil uji identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> | 22 |
| 4.2. Hasil uji sensitivitas | 22 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 2.1. Bagan Komposisi Kimia Susu | 7 |
| 2.2. Struktur kimia Penisilin | 11 |
| 3.1. Diagram Alur Penelitian | 18 |
| 4.1. Isolat <i>Staphylococcus sp.</i> | 19 |
| 4.2. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> tampak mikroskopis | 20 |
| 4.3. Hasil uji katalase positif | 21 |
| 4.4. Hasil uji koagulase positif | 21 |
| 4.5. Hasil uji sensitivitas | 23 |

DAFTAR LAMPIRAN

| lampiran | Halaman |
|---|----------------|
| 1. Tabel perhitungan diameter sensitivitas antibiotik | 34 |
| 2. Media yang digunakan dalam penelitian | 35 |
| 3. Cara pembuatan media agar | 36 |
| 4. Cara pembuatan Nutrient Broth | 37 |
| 5. Cara uji koagulase | 38 |
| 6. Pewarnaan Gram | 39 |
| 7. Dokumentasi Penelitian | 40 |

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

| | |
|-------------------------------|-------------------------------|
| μ | : mikro |
| β | : beta |
| g | : gram |
| H ₂ O ₂ | : Hidrogen Peroksida |
| HCl | : Hidrogen Chloride |
| Kg | : kilogram |
| MHA | : Mueller Hinton Agar |
| ml | : mililiter |
| MSA | : Mannitol Salt Agar |
| NaCl | : natrium chloride |
| SE | : Staphylococcus Enterotoksin |
| <i>Sp.</i> | : Spesies |

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Persediaan dan permintaan susu di Indonesia terjadi kesenjangan yang cukup besar. Kebutuhan atau permintaan jauh lebih besar daripada ketersediaan susu yang ada (Sudono dkk., 2003). Menurut Asmara dkk. (2015) perkembangan populasi ternak sapi perah maupun produksi susu sapi nasional memperlihatkan kondisi yang semakin baik, namun demikian peningkatan populasi dan produksi tersebut belum mampu mengimbangi perkembangan permintaan dan konsumsi susu nasional yang juga semakin meningkat.

Kesadaran masyarakat terhadap konsumsi susu, menjadikan susu sebagai komoditas ekonomi yang mempunyai nilai sangat strategis (Farid, 2011). Pasokan susu segar nasional hanya mencukupi kebutuhan sebanyak 30% untuk seluruh Indonesia dan sisanya sebanyak 70% adalah impor (Prihutomo, 2015). Penyebabnya antara lain karena peternakan-peternakan sapi perah produktifitasnya belum maksimum, dan populasi sapi perah yang masih terbatas jumlahnya.

Menurut Ferianto (2012) penyakit merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi perkembangan usaha peternakan. Penyakit yang paling sering terjadi pada sapi perah disebabkan oleh bakteri yaitu peradangan pada ambing (mastitis). Mastitis merupakan salah satu penyakit yang sangat merugikan peternak sapi perah yang berakibat menurunnya produksi susu. Penyakit ini disebabkan karena masuknya kuman atau bakteri ke dalam ambing sapi perah (Poeloengan, 2009). Menurut Persson *et al.* (2011) bakteri yang paling sering diisolasi adalah

Staphylococcus, *Streptococcus* dan *E. coli*. Sementara itu, menurut Tyasningsih (2010) terjadinya mastitis pada suatu peternakan selain dipengaruhi oleh mikroorganisme yang meliputi jenis, jumlah, dan virulensinya, juga dipengaruhi oleh hewannya yang meliputi bentuk ambing, puting, dan umur, serta pengelolaan peternakan meliputi perkandangan, sanitasi kandang dan kebersihan pemerahan.

Staphylococcus aureus adalah agen penyebab mastitis pada sapi perah yang sering ditemukan dalam susu dan produk susu. Infeksi staphylococcal dari kelenjar susu sapi merupakan reservoir yang signifikan dari enterotoxigenic pada strain *Staphylococcus aureus* (Marshall, 1993). *Staphylococcus aureus* merupakan agen penyebab utama mastitis pada sapi perah. *Staphylococcus aureus* sering menyebabkan mastitis subklinis maupun mastitis kronis, sehingga kejadian mastitis seringkali dihubungkan dengan infeksi *Staphylococcus aureus* (Dewi, 2013).

Koperasi Agribisnis Dana Mulya merupakan koperasi produsen yang terletak di wilayah Kecamatan Pacet, Kabupaten Mojokerto. Koperasi tersebut merupakan salah satu koperasi yang berusaha mensejahterakan anggota-anggotanya yang terdiri dari para peternak sapi. Berdasarkan laporan peternak disana kasus mastitis mayoritas adalah mastitis klinis. Penanganan dalam kejadian kasus mastitis di Koperasi Agribisnis Dana Mulya yang sering dilakukan yaitu dengan pemberian antibiotika yang mengandung penisilin dan streptomisin.

Titik berat pengendalian mastitis ialah upaya penekanan terjadinya infeksi silang antara puting yang terinfeksi ke puting susu yang sehat dalam satu ternak atau antar ternak (Supar, 1997). Penggunaan antibiotika sangat penting dalam melawan bakteri yang menyebabkan mastitis sehingga penggunaan antibiotika

yang tepat harus dipilih untuk memastikan efektifitas antibiotika tersebut. Penggunaan antibiotika di Indonesia yang cukup dominan adalah turunan tetrasiklin, penisilin, kloramfenikol, eritromisin dan streptomisin baik pada manusia maupun hewan (Asmat, 2015). Pola penggunaan antibiotika tersebut telah mencapai tingkat yang berlebihan dan banyak diantaranya digunakan tidak tepat. Tidak terkendalinya penggunaan antibiotika, cenderung akan meningkatkan resistensi kuman yang semula sensitif (Refdanita dkk., 2004).

Berdasarkan permasalahan di atas, maka perlu dilakukan penelitian isolasi bakteri *Staphylococcus aureus* dari susu mastitis dan sensitivitasnya terhadap beberapa antibiotika yaitu Penisilin, dan tiga antibiotik alternatif Gentamisin, Eritromisin, dan Doksisiklin sebagai perbandingan dalam pemilihan obat untuk pengobatan mastitis pada peternakan.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka yang menjadi rumusan masalah adalah:

1. Apakah pada sampel susu mastitis di Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet didapatkan bakteri *Staphylococcus aureus*?
2. Bagaimana sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* isolat susu mastitis di Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet terhadap antibiotik Doksisiklin, Gentamisin, Penisilin, dan Eritromisin?

1.3. Landasan Teori

Penyakit radang ambing yang dikenal sebagai mastitis masih tetap merupakan masalah utama dalam peternakan sapi perah karena menyebabkan kerugian yang cukup besar sehubungan dengan penurunan produksi, kualitas, dan penyingkiran susu, biaya perawatan dan pengobatan yang cukup tinggi, serta pengafkiran ternak lebih awal. Insidensi mastitis pada sapi perah di Indonesia sangat tinggi (85%) dan sebagian besar merupakan infeksi yang bersifat subklinis. Penyebab mastitis subklinis yang paling sering terdeteksi adalah *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan beberapa jenis bakteri lain seperti *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli* (Abrar, 2012).

Staphylococcus aureus memiliki banyak faktor virulensi potensial dan *Staphylococcus enterotoksin* (SE) adalah salah satu di antara beberapa yang bertanggung jawab dalam keracunan makanan (Tegege, 2017). *S. aureus* yang berkaitan dengan keracunan makanan pada manusia dan infeksi intramammæ pada hewan diproduksi oleh strain dengan daya tahan untuk menghasilkan berbagai faktor virulensi. Faktor virulensi ini termasuk produksi enzim, toxin dan berbagai protein resistensi. Banyak strain mastitis terkait *S. aureus* juga memproduksi enterotoksin serta faktor-faktor lain termasuk racun staphylococcal shock syndrome toxin dan racun eksfoliatif (McMillan *et al.*, 2016).

Resistensi bakteri terhadap antibiotik membawa masalah tersendiri yang dapat menggagalkan terapi dengan antibiotik. Resistensi dapat merupakan masalah individual dan epidemiologik. Resistensi adalah ketahanan mikroba terhadap antibiotik tertentu yang dapat berupa resistensi alamiah, resistensi karena adanya

mutasi spontan (resistensi kromosomal) dan resistensi karena adanya faktor R pada sitoplasma (resistensi ekstrakromosomal) atau resistensi karena pemindahan gen yang resisten atau faktor R atau plasmid (resistensi silang). Penyebab terjadinya resistensi mikroba adalah penggunaan antibiotik yang tidak tepat, misalnya penggunaan dengan dosis yang tidak memadai, pemakaian yang tidak teratur, demikian juga waktu pengobatan yang tidak cukup lama. Maka untuk mencegah atau memperlambat timbul resistensi mikroba, harus diperhatikan cara-cara penggunaan antibiotik yang tepat (Wattimena dkk., 1991).

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pada sampel susu mastitis di Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet didapatkan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* isolat susu mastitis di Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet terhadap antibiotik Doksisiklin, Gentamisin, Penisilin, dan Eritromisin.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberi informasi kepada peternak sapi perah tentang antibiotika yang tepat dalam mengobati kasus penyakit mastitis.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Susu

2.1.1. Pengertian Susu

Susu adalah bahan pangan yang berasal dari sekresi kelenjar ambing pada hewan mamalia (sapi, kambing, kerbau, dan kuda) serta mengandung protein, lemak, laktosa, mineral, dan vitamin (Gustiani, 2009). Menurut Reta *et al.* (2016) susu adalah cairan steril saat disekresi pada alveoli ambing. Sementara itu, menurut Putri (2016) susu adalah cairan yang dihasilkan dari sekresi kelenjar mammae hewan mamalia yang berfungsi untuk memenuhi kebutuhan gizi. Berdasarkan beberapa pendapat di atas, dapat disimpulkan bahwa susu adalah cairan yang dikeluarkan dari ambing yang mengandung sejumlah nutrisi.

2.1.2. Komposisi susu

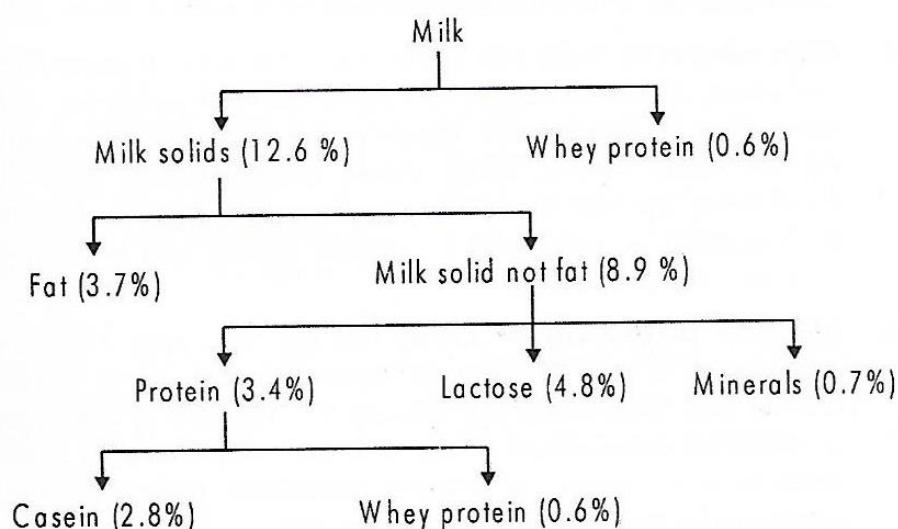
Komponen utama susu adalah air. Dalam air, berbagai elemen anorganik, senyawa nitrogen terlarut seperti asam amino, kreatinin, urea dan protein albumin yang larut dalam air, laktosa, enzim, vitamin B kompleks dan vitamin C yang larut (Singh *et al.*, 2006). Susu segar sedikit asam, dengan pH 6,5-6,7 atau $6,85^{\circ} \text{SH} \pm 1,35^{\circ} \text{SH}$ (Gravert, 1987).

Menurut Singh *et al.* (2006) komposisi susu adalah sebagai berikut:

- a) protein susu : protein susu terdapat sekitar 95% dari nitrogen dalam susu.

Fraksi protein didominasi oleh kasein, yang terdiri dari berbagai fraksi.

- b) Laktosa : adalah satu-satunya karbohidrat dalam susu, kecuali sedikit glukosa, netral dan asam oligosakarida, dan galaktosa.
- c) Lemak susu : lemak susu terdiri dari campuran trigliserida yang mengandung berbagai macam asam lemak jenuh dan tak jenuh.
- d) Mineral : susu merupakan sumber calcium yang sangat baik (1,2 g/Kg), fosfor (1,0 g/Kg) dan magnesium (0,12 g/Kg). Level tertinggi dari mineral-mineral ini adalah rasio optimal untuk pertumbuhan dan pemeliharaan tulang.
- e) Vitamin : vitamin adalah senyawa organik penting yang diperlukan dalam diet. Susu mengandung vitamin A yang cukup, vitamin C dan D dengan jumlah yang sangat kecil dan vitamin E dan K. Susu juga merupakan sumber baik dari vitamin B. Susu mengandung semua jenis vitamin B. Vitamin yang larut dalam lemak (A, D, E, K) berhubungan dengan globul lemak susu.



Gambar 2.1. Bagan komposisi kimia susu

(Sumber: Singh *et al.*, 2006)

2.2. Mastitis

2.2.1. Pengertian Mastitis

Menurut asal katanya, mastitis berasal dari bahasa Yunani “Mastos” yang artinya ambing dan “Itis” yang artinya radang (Tyasningsih dkk., 2010). Menurut McMillan *et al.* (2016) mastitis adalah infeksi radang kelenjar mammae disebabkan oleh berbagai bakteri. Sementara itu, menurut Ali (2014) mastitis adalah peradangan pada kelenjar susu dengan fisik, kimia, dan perubahan mikrobiologi, ditandai dengan peningkatan sel somatik, terutama leukosit dalam jaringan mammae.

2.2.2. Penyebab Mastitis

Mastitis dapat disebabkan karena adanya trauma atau gangguan fisiologis, tetapi kerugian ekonomi penyakit ini sering kali disebabkan adanya infeksi mikroba, yang hampir selalu disebabkan oleh bakteri, jamur, mycoplasma, virus, hingga parasit kadang-kadang dapat menjadi agen penyebab (Tyasningsih dkk., 2010).

Penyebab mastitis yang infeksius pada sapi umumnya adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Corynebacterium pyogenes*, *Corynebacterium bovis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Bakteri dan mikroba lain yang dapat menyebabkan mastitis tetapi dengan frekuensi jarang antara lain *Mycoplasma*, *Actinomyces*, *Mycobacterium*, *Clostridium perfringens*, *Brucella*, *Leptospirosis*, *Nocardia*, *Yeast* (Tyasningsih dkk., 2010).

2.3. *Staphylococcus aureus*

Menurut Ferianto (2012) klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

| | |
|---------|--------------------------------|
| Divisi | : Protophyta |
| Kelas | : Schizomycetes |
| Ordo | : Eubacteriales |
| Famili | : Micrococceae |
| Genus | : Staphylococcus |
| Spesies | : <i>Staphylococcus aureus</i> |

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1 mikron, bergerombol menyerupai untaian anggur, Gram positif, non motil, tidak membentuk spora, beberapa strain yang langsung diambil dari penderita membentuk semacam kapsul, koloni berwarna kuning emas, hemolisis pada blood agar, dapat tumbuh dalam media dengan konsentrasi NaCl hingga 15% (pada media MSA berwarna kuning) (Tyasningsih dkk., 2010).

Staphylococcus aureus tumbuh pada suhu 6,5-46° C dan pada pH 4,2-9,3. Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen *lipochrom* yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. *Staphylococcus aureus* pada media Mannitol Salt Agar (MSA) akan terlihat sebagai pertumbuhan koloni berwarna kuning (Dewi, 2013).

Protein A termasuk dalam komponen permukaan pada kebanyakan *S. aureus* yang virulen. Mikrokapsul polisakarida pada beberapa galur *S. aureus* yang berfungsi sebagai antifagosit yang mempunyai kemampuan mencegah bakteri dari

respon peradangan. Pada permukaan sel *S. aureus* juga terdapat pigmen karoten yang memberi warna orange atau kuning (Dewi, 2013).

2.4. Antibiotika

Antibiotika berasal dari kata “anti” yang berarti lawan dan “bios” yang berarti hidup merupakan senyawa-senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme terutama fungi dan bakteri yang memiliki khasiat mematikan dan menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relative kecil (Panagan, 2011). Menurut Ferianto (2012) antibiotika adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh berbagai jasad renik kuman, jamur, dan antinomiset, yang memiliki khasiat menghentikan pertumbuhan atau membunuh jasad renik lainnya.

2.4.1. Doksisiklin

Doksisiklin termasuk turunan tetrasiklin yang bekerja panjang (*long acting*). Farmakokinetik dan farmakodinamik Doksisiklin sama dengan Oxytetrasiklin dan Chlortetrasiklin demikian juga aktifitas antibakterial sama, yang berbeda adalah eksresi berjalan lambat karena ikatan oleh protein plasma dan protein jaringan sangat kuat sehingga kadar efektif di dalam plasma dapat bertahan sampai 48 jam (Juniastuti dkk., 2015).

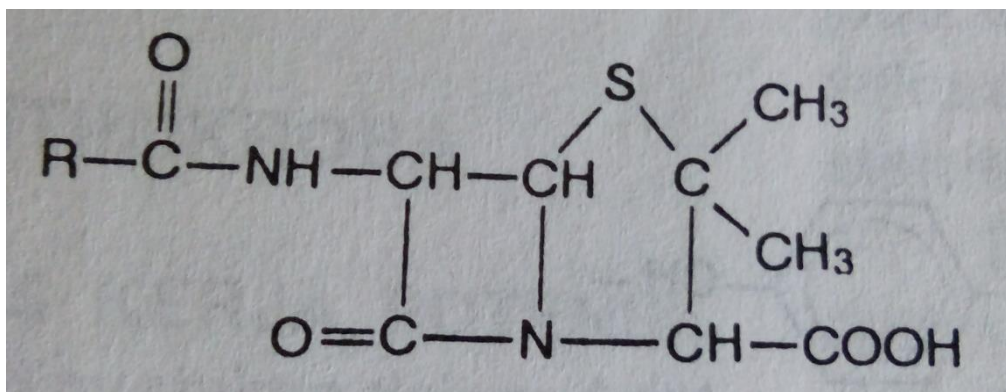
2.4.2. Gentamisin

Gentamisin pertama kali ditemukan pada tahun 1963 dari sejenis kapang, yakni *Micromonospora purpurea*. Gentamisin efektif untuk infeksi oleh

Pseudomonas yang menginfeksi urogenital, juga sangat efektif terhadap infeksi oleh *E. coli*, *Proteus*, dan kuman gram positif seperti *Staphylococcus*, *Streptococcus*. Gentamisin termasuk antibiotika berspektrum luas namun lebih efektif terhadap kuman Gram negatif dan bersifat bakteriosidal (Juniastuti dkk., 2015).

2.4.3. Penisilin

Penisilin pertama kali pada tahun 1926 diisolasi dari *Penicillium notatum*. Yang termasuk dalam kelompok Penicillin adalah Benzyl penicillin (Penicillin G), Phenoxymethyl penicilin (Penicillin V), Ampicillin dan Amoxicillin. Semua antibiotika yang termasuk dalam kelompok Penicillin bersifat bakteriosid dan bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel mikroorganisme penyebab penyakit (Juniastuti dkk., 2015).



Gambar 2.2. Struktur kimia Penisilin (Istiantoro dan Vincent, 2003)

Penisilin merupakan asam organik, terdiri dari satu inti siklik dengan satu rantai samping. Inti siklik terdiri dari cincin tiazolidin dan cincin betalaktam. Rantai

samping merupakan gugus amino bebas yang dapat mengikat berbagai jenis radikal (Istiantoro dan Vincent, 2003).

Penisilin adalah obat antibakteri penting dalam pengobatan infeksi pada hewan. Kerentanan sering pada bakteri Gram-positif, seperti staphylococci beta-hemolitik. Penicillin antistaphylococcal digunakan secara luas untuk pengobatan dan pencegahan infeksi *Staphylococcus* pada sapi (Giguère *et al*, 2013).

2.4.4. Eritromisin

Eritromisin ditemukan pada tahun 1952 yang diisolasi dari *Streptomyces erythreus*. Aktivitas antibakteri erytromicin terutama kuman Gram positif, termasuk yang resisten terhadap penicillin. Resistensi silang terjadi antar beberapa kelompok makrolid, namun tidak terhadap antibiotika lainnya (Juniastuti dkk., 2015).

BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di peternakan dalam wilayah kerja Koperasi Agribisnis Dana Mulya Kecamatan Pacet Kabupaten Mojokerto Provinsi Jawa Timur dan di Laboratorium Bakteri dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian ini dilaksanakan pada Bulan April sampai Bulan Mei 2017.

3.2. Bahan dan Materi Penelitian

3.2.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel susu yang diambil dari sapi perah yang menderita mastitis di peternakan dalam wilayah kerja Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet, larutan aquadest steril untuk pengenceran bakteri. Bahan yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah media MSA, larutan H₂O₂, plasma darah kelinci, media cair Nutrient Broth, dan media MHA untuk uji sensitivitas. Antibiotik yang digunakan adalah Penisilin, Gentamisin, Eritromisin, dan Doksisiklin yang berupa paperdisk.

3.2.2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah botol kaca, ose, pembakar bunsen, korek api, penggaris, petridisk, pinset, pengaduk gelas bengkok, inkubator, tabung reaksi steril, spuit 1 ml, spuit 12 ml, vortex, ice pack, dan coolbox untuk

menyimpan susu selama perjalanan. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini harus dalam keadaan steril agar tidak ada kontaminasi dari bakteri lain.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Pengambilan Sampel

Sampel berupa susu dari sapi perah yang menderita penyakit mastitis yang diambil dari peternak di wilayah kerja Koperasi Agribisnis Dana Mulya pacet. Sampel susu diambil pada kuartir yang menderita mastitis. Sampel susu yang telah diambil kemudian dimasukkan ke dalam botol kaca steril.

3.3.2. Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Langkah-langkah yang dilakukan untuk isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* yaitu siapkan media MSA (*Manitol Salt Agar*) dan sampel susu sapi dalam botol kaca. Siapkan bunsen yang sudah menyala, kemudian ose yang akan digunakan dibakar terlebih dahulu sampai berpijar. Celupkan ose pada sampel lalu *streak* berupa garis zig-zag pada media isolasi MSA. Inkubasi media pada suhu 37°C selama 24 jam. Amati koloni yang tumbuh dan terpisah, bila warna koloni berwarna kuning, yang kemungkinan koloni tersebut adalah *Staphylococcus aureus*, kemudian koloni diperbanyak dengan media MSA lagi.

Koloni berwarna kuning yang diambil dari media MSA kemudian dilakukan uji katalase. Koloni dari media MSA diambil menggunakan ose kemudian dicampur dengan setetes H₂O₂ pada objek glass, kemudian amati. Adanya *Staphylococcus sp.* ditandai dengan munculnya gelembung gas, karena *Staphylococcus aureus*

menghasilkan enzim katalase, yang merubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Iman dkk, 2011).

Setelah dilakukan uji katalase, untuk memastikan bahwa kuman tersebut adalah *Staphylococcus aureus* maka dilakukan uji koagulase, yaitu mengambil koloni yang diambil dari media MSA menggunakan ose, kemudian masukkan ke dalam media Nutrient Broth dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, siapkan plasma kelinci sebanyak 1 ml lalu dicampur hingga merata menggunakan *vortex* lalu diinkubasi selama 4 sampai 24 jam. Adanya *Staphylococcus aureus* ditandai dengan penggumpalan plasma, karena menurut Iman dkk. (2011) *Staphylococcus aureus* menghasilkan koagulase, suatu protein mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma.

3.3.3. Pembuatan Suspensi *Staphylococcus aureus*

Untuk melihat resistensi kuman *Staphylococcus aureus* maka dilakukan uji sensitivitas dengan membuat suspensi bakteri dengan indikator kekeruhan disamakan dengan standar Mc Farland nomor 1 yang mengandung 3×10^8 kuman (Ferianto, 2012). Menurut Beisher (1983), jumlah bakteri yang memenuhi syarat untuk uji sensitivitas yaitu $10^5 - 10^8$ / ml dan suspensi *Staphylococcus aureus* yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan jumlah bakteri 3×10^6 . Sehingga untuk mendapatkan suspensi bakteri dengan jumlah 3×10^6 , maka perlu dilakukan pengenceran. Cara membuat suspensi bakteri yaitu dengan memasukkan koloni *Staphylococcus aureus* ke dalam larutan aquadest steril yang ada pada tabung reaksi 1 kemudian diaduk hingga merata. Kemudian tabung reaksi yang sudah terdapat

koloni bakteri tersebut, diambil 1 ml lalu dimasukkan ke dalam 9 ml larutan aquadest steril di tabung reaksi 2, kemudian diambil lagi 1 ml dari tabung reaksi 2 dimasukkan ke dalam larutan aquadest steril di tabung reaksi 3, sehingga didapatkan jumlah bakteri 3×10^6 .

3.3.4. Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dalam penelitian ini adalah menggunakan antibiotik Penisilin, Gentamisin, Eritromisin, dan Doksisiklin dengan metode Kirby-Bauer.

Siapkan media MHA pada petridish. Ambil suspensi bakteri dengan pipet steril sebanyak 0,2 ml lalu tuang pada media MHA, ratakan dengan pengaduk gelas bengkok. Diamkan selama 20 menit agar bakteri menempel pada media. Kemudian, siapkan paperdisk berisi antibiotik Penisilin, Gentamisin, Eritromisin, dan Doksisiklin, letakkan paperdisk di permukaan media MHA menggunakan pinset. Setelah itu inkubasi bakteri selama 24 jam dengan suhu 37°C.

Hasil pengujian terlihat adanya zona bening di sekitar paperdisk sebagai daerah hambatan pertumbuhan bakteri, dan zona bening tersebut diukur menggunakan penggaris.

3.4. Pembacaan Hasil

Daerah hambatan antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri diukur menggunakan penggaris dalam satuan mm. Hasilnya dibaca menurut CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) pada Tabel 3.1 di bawah ini.

| Antibiotik | S | I | R |
|------------------------|-----------|-------|-----------|
| Penisilin 10 units | ≥ 29 | - | ≤ 28 |
| Gentamisin 10 μ g | ≥ 15 | 13-14 | ≤ 12 |
| Doksisiklin 30 μ g | ≥ 16 | 13-15 | ≤ 12 |
| eritromisin 15 μ g | ≥ 23 | 14-22 | ≤ 13 |

(Sumber: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014)

3.5. Variabel Penelitian

3.5.1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang diamati adalah antibiotika, yang terdiri dari antibiotik Doksisiklin, Gentamisin, Penisilin, dan Eritromisin.

3.5.2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah zona hambatan bakteri.

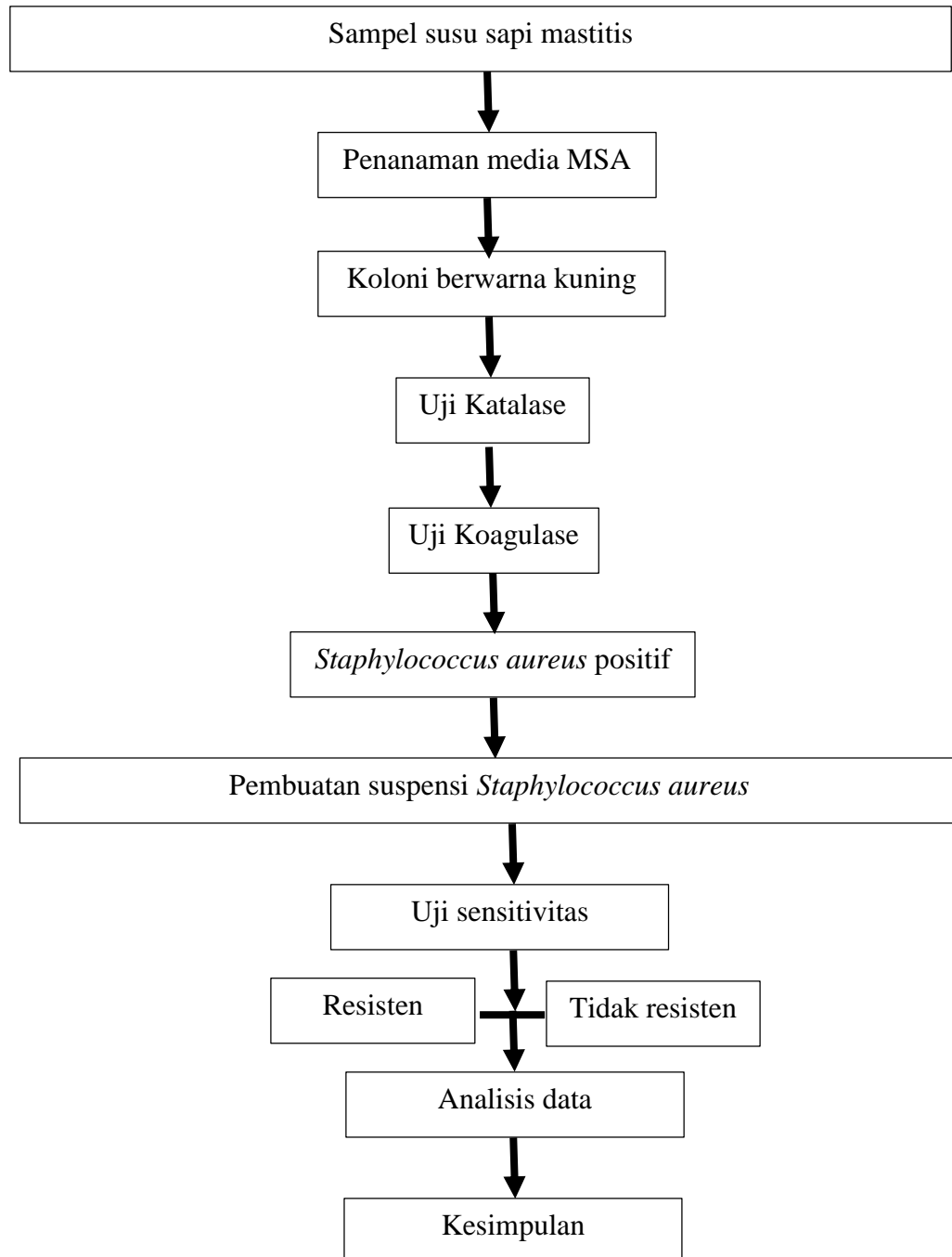
3.5.3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali adalah *Staphylococcus aureus* hasil isolasi dan identifikasi.

3.6. Analisis Data

Data yang ada secara kualitatif diolah dan dipaparkan secara deskriptif.

3.7. Diagram Alur Penelitian



Gambar 3.1. Diagram alur penelitian

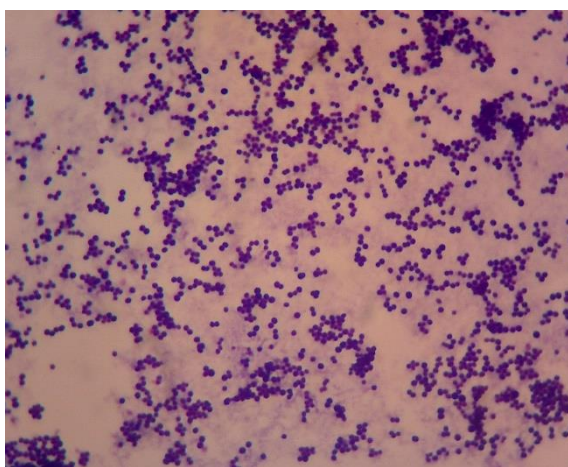
BAB 4 HASIL PENELITIAN

Sampel susu didapatkan dari 10 ekor sapi perah yang terkena mastitis pada enam peternakan di wilayah kerja Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet, Kabupaten Mojokerto. Dari 10 sampel tersebut kemudian diisolasi menggunakan media MSA dengan cara streak pada media tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Berdasarkan hasil isolasi bakteri didapatkan enam media berwarna kuning yang diduga bakteri *Staphylococcus sp.* bakteri tersebut dapat menfermentasi mannitol, dua media berwarna merah karena bakteri tersebut tidak dapat memfermentasi mannitol seperti yang terlihat pada Gambar 4.1, sedangkan dua media sisanya tidak ditumbuhi bakteri. Dua media yang berwarna merah diduga bakteri *Staphylococcus epidermidis* atau *Bacillus sp.* Bakteri yang merubah media MSA menjadi kuning kemudian dilakukan pemurnian dan diperbanyak pada media MSA, kemudian dilakukan uji lanjutan yaitu tahap identifikasi. Tahap identifikasi meliputi pewarnaan Gram, uji katalase, dan uji koagulase.



Gambar 4.1. Isolat *Staphylococcus sp.*

Pewarnaan Gram digunakan untuk melihat bentuk bakteri di bawah mikroskop dan membuktikan bahwa bakteri tersebut merupakan Gram positif karena bakteri Gram positif menyerap warna ungu. Hasil dari enam sampel yang diisolasi, didapatkan enam sampel positif berwarna ungu dan berbentuk coccus bergerombol seperti yang terlihat pada Gambar 4.2 di bawah ini.



Gambar 4.2. Bakteri *Staphylococcus aureus* tampak mikroskopis

Setelah dilakukan uji isolasi, kemudian dilanjutkan dengan uji identifikasi yang meliputi uji katalase dan uji koagulase. Pada uji katalase, dari enam sampel yang diuji positif menghasilkan gelembung gas yang tampak seperti pada Gambar 4.3, kemudian dilanjutkan uji koagulase dan dari enam sampel menunjukkan adanya penggumpalan plasma yang ditunjukkan pada Gambar 4.4 sehingga bisa dipastikan bahwa enam sampel yang diuji positif *Staphylococcus aureus*.



Gambar 4.3. Hasil uji katalase positif



Gambar 4.4. Hasil uji koagulase positif

Berdasarkan hasil uji identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* terlihat bahwa dari enam sampel yang diduga *Staphylococcus aureus* saat dilakukan uji identifikasi dinyatakan positif 100% ditunjukkan dengan Tabel 4.1 di bawah ini.

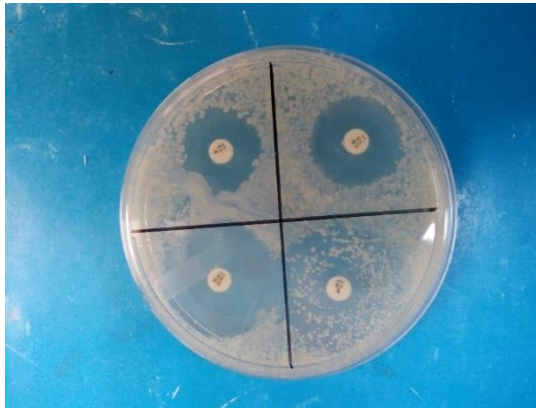
Tabel 4.1. Hasil uji identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

| Sampel | Uji identifikasi | | |
|--------|------------------|--------------|---------------|
| | Pewarnaan gram | Uji katalase | Uji koagulase |
| S1 | Coccus-ungu | + | + |
| S2 | Coccus-ungu | + | + |
| S3 | Coccus-ungu | + | + |
| S4 | Coccus-ungu | + | + |
| S5 | Coccus-ungu | + | + |
| S6 | Coccus-ungu | + | + |

Uji sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* ini menggunakan empat macam antibiotik yaitu penisilin, gentamisin, doksisisiklin, dan eritromisin yang ditanam di media MHA. Tabel 4.2. berikut ini merupakan hasil uji sensitivitas yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat antibiotik.

Tabel 4.2. Hasil Uji Sensitivitas

| isolat | Diameter zona hambat antibiotik (mm) | | | |
|--------|--------------------------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------|
| | Penisilin (10 units) | Gentamisin (10 µg) | Doksisisiklin (30 µg) | Eritromisin (15 µg) |
| S1 | 0 (R) | 27 (S) | 33 (S) | 9,6 (R) |
| S2 | 0 (R) | 29 (S) | 35 (S) | 14 (I) |
| S3 | 21 (R) | 23 (S) | 30 (S) | 32 (S) |
| S4 | 25 (R) | 27 (S) | 30 (S) | 32 (S) |
| S5 | 29 (S) | 24 (S) | 33 (S) | 33 (S) |
| S6 | 35 (S) | 18 (S) | 32 (S) | 3,6 (R) |



Gambar 4.5. Hasil uji sensitivitas

Berdasarkan hasil uji sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap empat antibiotik, empat isolat resisten terhadap antibiotik Penisilin sedangkan dua isolat sensitif, kemudian enam isolat sensitif terhadap antibiotik Gentamisin dan Doksisiklin, kemudian untuk hasil terhadap antibiotik Eritromisin yaitu tiga isolat sensitif, dua resisten, dan satu isolat intermediet.

BAB 5 PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil isolasi pada media MSA, dari 10 sampel didapatkan enam sampel bakteri *Staphylococcus sp.* karena media MSA berubah warna dari merah menjadi kuning. Berubahnya media dari merah menjadi kuning, menurut Dewi (2013) karena bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menfermentasi mannitol sehingga terlihat pertumbuhan koloni berwarna kuning. Hasil dari biakan pada media MSA terdapat dua sampel yang koloninya berwarna merah karena tidak dapat menfermentasi mannitol, sedangkan dua sampel sisanya tidak ditumbuhi bakteri. Media yang tidak ditumbuhi bakteri kemungkinan karena dalam sampel susu tersebut tidak ada bakteri *Staphylococcus sp.*, karena menurut Sulaiman (2014), MSA merupakan media selektif dan diferensial untuk identifikasi *Staphylococcus sp.*. Media ini mengandung garam natrium klorida 7,5% sehingga media ini menjadi media selektif. Karena sebagian besar bakteri tidak dapat tumbuh pada konsentration garam 7,5% kecuali *Staphylococcus*.

Hasil isolasi bakteri yang positif memfermentasi mannitol kemudian dimurnikan dan diperbanyak pada MSA dengan cara streak untuk dilakukan uji selanjutnya. Setelah dimurnikan dan diperbanyak, dilakukan pewarnaan Gram lalu dilanjutkan pemeriksaan mikroskopis untuk melihat bentuk koloni bakteri tersebut. Menurut Iman (2011), genus *Staphylococcus* merupakan bakteri berbentuk bulat dengan susunan seperti buah anggur, dan saat pewarnaan Gram berwarna ungu karena *Staphylococcus* merupakan Gram positif (Handijatno, 2016). Pada pemeriksaan mikroskopis, enam isolat bakteri terlihat berbentuk coccus atau bulat,

bergerombol seperti anggur, dan berwarna ungu yang sesuai dengan morfologi genus *Staphylococcus*.

Isolat yang sudah diperiksa secara mikroskopis kemudian dilanjutkan dengan uji katalase dan uji koagulase. Uji ini bertujuan untuk membedakan bakteri *Staphylococcus sp.* dengan bakteri lainnya. Berdasarkan hasil uji katalase, enam isolat bakteri terlihat semua positif bergelembung yang membuktikan bahwa isolat tersebut merupakan *Staphylococcus*. Menurut Toelle (2014) *Staphylococcus* menghasilkan enzim katalase yang mampu menghidrolisis hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan gelembung gas (O_2).

Setelah dilakukan uji katalase, untuk membuktikan bahwa isolat tersebut benar-benar *Staphylococcus aureus* maka dilanjutkan dengan uji koagulase. *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim koagulase, koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang dapat menggumpalkan plasma (Dewi, 2014). Pada uji koagulase, semua isolat menghasilkan koagulase positif yang berarti bahwa enam isolat tersebut merupakan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan hasil uji sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik Doksisisiklin, Gentamisin, Penisilin, dan Eritromisin didapatkan bahwa antibiotik Penisilin pada peternakan dalam wilayah kerja Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet, Kabupaten Mojokerto sudah tidak efektif digunakan sebagai terapi penyakit mastitis meskipun dua isolat sisanya masih sensitif terhadap antibiotik Penisilin.

Penisilin termasuk golongan antibiotik β -laktam. Antibiotik β -laktam merupakan antibiotik yang sering digunakan dalam pengobatan mastitis pada sapi perah kecuali methicillin. Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik β -laktam merupakan masalah yang cukup banyak ditemukan di beberapa negara, srtain seperti ini menjadi lebih tinggi prevalensinya jika pengobatan dengan antibiotik β -laktam tidak didasarkan pada dosis penggunaan yang tepat (Effendi, 2009).

Hasil uji sensitivitas untuk antibiotik Doksisisiklin seperti yang dipaparkan pada tabel 4.2. menunjukkan bahwa bakteri *Stpahylococcus aureus* sensitif 100%. Doksisisiklin merupakan antibiotik golongan tetrasiklin yaitu antibiotik yang bersektum luas efektif terhadap kuman Gram positif maupun kuman Gram negatif, dan bersifat bakteristatik serta bekerja menghambat sintesa protein kuman pada ribosom subunit 30S, yakni dengan merubah kode genetik yang dihasilkan oleh mRNA sehingga terbentuk protein baru yang nonfungsional untuk kuman (Juniastuti dkk., 2015).

Hasil yang sama juga terlihat pada antibiotik Gentamisin, bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan sensitif 100% dari semua isolat. Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikoside yaitu antibiotik yang mempunyai dua atau lebih gugus amino yang terikat pada gugus benzena dan bersifat bakteriosid (Juniastuti dkk., 2015).

Sedangkan pada antibiotik Eritromisin menunjukkan resistensi yang beragam, yaitu 50% dari sampel masih sensitif. Eritromisin merupakan antibiotik golongan makloride yang efektif terhadap kuman Gram positif (Juniastuti dkk.,

2015). Eritromisin merupakan antibiotik golongan makrolide yang bersifat bakteriostatik, yang bekerja menghambat sintesa protein pada bakteri dengan menghalangi protein baru keluar dari ribosom (Novak, 2015). *Staphylococcus aureus* membentuk formasi sub unit ribosom dan salah satunya adalah 50S ribosom, oleh eritromisin sub unit 50S diikat dan dicegah pembentukan formasi sub unit tersebut, akibat dari penghambatan ini maka bakteri tidak dapat berkembang biak (Effendi, 2009).

Penelitian yang dilakukan di beberapa peternakan Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet, Kabupaten Mojokerto mendapatkan sampel sebanyak 10 sampel dari 10 sapi perah. Penelitian ini membuktikan bahwa antibiotik Penisilin sudah tidak efektif untuk pengobatan mastitis, dan antibiotik Eritromisin masih bisa digunakan tapi tidak seefektif antibiotik Doksisiklin dan Gentamisin, sehingga dapat memberi informasi kepada masyarakat terutama peternak bahwa penggunaan antibiotik terus menerus dalam mengobati penyakit yang sama dapat membuat bakteri tersebut menjadi resisten.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Staphylococcus aureus yang diisolasi dari susu sapi mastitis di Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet, Kabupaten Mojokerto resisten terhadap antibiotik Penisilin dan antibiotik Eritromisin, tetapi sensitif terhadap antibiotik Doksisisiklin dan Gentamisin.

6.2. Saran

1. Gentamisin dan Doksisisiklin dapat digunakan sebagai antibiotik alternatif untuk pengobatan mastitis.
2. Antibiotik Penisilin dan Eritromisin tidak efektif digunakan untuk pengobatan penyakit mastitis.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait antibiotik lain yang jarang digunakan untuk pengobatan mastitis.

RINGKASAN

Hanna Shofiana Putri. Sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* Isolat dari Susu Mastitis Terhadap Beberapa Antibiotika. Dibawah bimbingan Suryanie Sarudji, M.Kes., drh. selaku pembimbing pertama dan Suryo Kuncorojakti, drh, M.Vet. selaku pembimbing kedua.

Mastitis merupakan penyakit yang merugikan peternak sapi perah yang sering disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Selain bakteri *Staphylococcus aureus*, penyebab mastitis juga disebabkan oleh beberapa faktor meliputi sanitasi kandang dan sistem perkandangan dalam suatu peternakan.

Resistensi bakteri terhadap antibiotik membawa masalah tersendiri yang dapat menggagalkan terapi dengan antibiotik. Resistensi adalah ketahanan mikroba terhadap antibiotik tertentu. Penyebab resistensi adalah karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat atau dosis yang tidak memadai (Wattimena dkk., 1991).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pada sampel susu mastitis di Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet didapatkan bakteri *Staphylococcus aureus* dan untuk mengetahui sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik Penisilin, Gentamisin, Eritromisin, dan Doksisiklin sehingga dapat membantu peternak dalam pemilihan obat alternatif pengobatan mastitis.

Sampel susu didapat dari peternakan di wilayah kerja Koperasi Agribisnis Dana Mulya Pacet, Kabupaten Mojokerto sebanyak 10 sampel. Sampel diambil dari sapi perah yang menderita mastitis. Sebanyak 10 sampel susu kemudian dilakukan uji isolasi dan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan didapatkan enam

sampel tumbuh pada media. Setelah itu, dilanjutkan dengan uji sensitivitas terhadap antibiotik Penisilin, Gentamisin, Doksisiklin, dan Eritromisin dengan menggunakan metode Kirby-Baurer.

Hasil dari uji sensitivitas yaitu didapatkan antibiotik Penisilin resisten terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* Eritromisin, sedangkan antibiotik Doksisiklin dan Gentamisin masih sensitif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrar, M., I Wayan, T.W., Bambang, P.P., Mirnawati, S., dan Fachriyan, H.P. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Hemagglutinin *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis Subklinis pada Sapi Perah. Jurnal Kedokteran Hewan. 6:1. 16.
- Asmara, A., Yeti, L.P., dan Deni, L. 2015. Keragaan Produksi Susu dan Efisiensi Usaha Peternakan Sapi Perah Rakyat di Indonesia. Jurnal Managemen & Agribisnis. Vol. 13 No. 1. P-ISSN: 1693-5853 E-ISSN: 2407-2524.
- Asmat, M.A.B. 2015. Uji Sensitivitas Antibiotika pada Isolat Lapang *Stapylococcus aureus* [Skripsi]. Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesmavet Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Biesher. 1983. Microbiology in Practice. Individualized Introduction for The Allied Health Science. 3rd ed. Harper and Row Publisher. New York.
- Clinical and Laboratory Institute. 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. CLSI Document M100-S24: USA. 51, 55, 70, 74.
- Dewi, K.A. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. Jurnal Sain Veteriner 31:2. 140-141.
- Effendi, M.H. 2009. Peta Resistensi Antibiotika *Staphylococcus aureus* dari Kasus Mastitis Sapi Perah di Beberapa Daerah Peternakan. Media Kedokteran Hewan. 24:3.
- Farid, M., dan Heny, S. 2011. Pengembangan Susu Segar Dalam Negeri Untuk Pemenuhan Kebutuhan Susu Nasional. Buletin Ilmiah Litbang Perdagangan. 5:2.
- Ferianto, A. 2012. Pola Resistensi *Staphylococcus aureus* yang Diisolasi dari Mastitis pada Sapi Perah di Wilayah Kerja KUD Argopuro Krucil Probolinggo Terhadap Antibiotika [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Giguère, S., John, H.P and Patricia, M.D. 2013. Antimikrobal Theraphy in Veterinary Medicine Fifth Edition. John Willey & Sons, Inc. : USA.
- Gravert, H.O. 1987. World Animal Science C3 Dairy-Cattle Production. Elsevier Science Publishers B.V: Netherlands.

- Gustiani, E. 2009. Pengendalian Cemaran Mikroba pada Bahan Pangan Asal Ternak (Daging dan Susu) Mulai dari Peternakan Sampai Dihidangkan. *Jurnal Litbang Pertanian* 28(3). 97.
- Handijatno, D., Wiwiek, T., Hasutji, I.N., Suryani, S., dan Sri, C. 2016. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Veteriner I Program S-1*. Airlangga University Press: Surabaya.
- Iman, E.R.S., Ratih, R., Hasutji, E.N., Suryanie., Wiwiek, T dan Sri, C. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Veteriner I*. Airlangga University Press: Surabaya.
- Istiantoro, Y.H, Vincent, H.S.G., Setiabudy, R dan Loecke, S.K. 2003. *Farmakologi dan Terapi*. Gaya Baru: Jakarta. 622, 625, 651.
- Juniastuti, T., Dewa K.M., Sri A.S., Iwan, S.H dan Rochmah, K. 2015. *Buku Ajar Farmakoterapi dan Toksikologi*. Duta Persada Press: Surabaya. 10-22.
- Marshall, R.T. 1993. *Standard Methods For The Examination of Dairy Products*. Port City Press: United States of America. 109, 119.
- McMillan, K., Sean, C.M., Catherine, M.M., Narelle, F., and Edward, M.F. 2016. Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates from Raw Milk Sources in Victoria, Australia. *BMC Microbiology*. 16:169. 2.
- Novak, I., Branka, K. 2015. Electronic Structure of Antibiotic Erythromycin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecula and Biomolecular Spectroscopy*. Vol. 138.
- Panagan, A.T. 2011. Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotika dari Tanah Kampus Unsri Indralaya Menggunakan Media Ekstrak Tanah. *Jurnal Penelitian Sains* 14:3. 38.
- Persson, Y., Ann-Kristin, J.N and Ulrika, G.A. 2011. Etiology and Antimicrobial Susceptibility of Udder Pathogens from Cases of Subclinical Mastitis in Dairy Cows in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica* 53:36. 1.
- Poeloengan, M. 2009. Aktivitas Air Perasan dan Ekstrak Etanol Daun Encok Terhadap Bakteri yang Diisolasi dari Sapi Mastitis Subklinis. Dalam: *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. 300.
- Prihutomo, S., Bhakti E.S dan Dian W.H. 2015. *Screening Sumber Cemaran Bakteri pada Kegiatan Pemerahan Susu di Peternakan Sapi Perah Rakyat Kabupaten Semarang*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 25:1. 66.
- Putri, E. 2016. Kualitas Protein Susu Sapi Segar Berdasarkan Waktu Penyimpanan. *Chempublish Journal*. 2:1. 14.

- Refdanita, Maksum, R., Nugrani, A dan Endang, P. 2004. Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002. *Makara, Kesehatan*. 8:2. 41.
- Reta, M.A., Tesfaye, W.B., and Ayelew, N.A. 2016. Bacterial Contaminations of Raw Cow's Milk Consumed at Jigjiga City Of Somali Regional State, Eastern Ethiopia. *International journal of food contamination*. 3(4): 2.
- Singh, S., Sonu, J., Desh, D.S and Harnam, S. 2006. Bovine Mastitis and Udder Affections. International Book Distributing Co. : India.
- Sudono, A., R. Fina, R., dan Budi, S.S. 2003. Beternak Sapi Perah Secara Intensif. AgroMedia Pustaka: Jakarta. 13.
- Sulaiman, A. 2014. Media Selektif dan Diferensial. <http://sulaiman-analisis.blogspot.com/2014/04/media-selektif-dan-diferensial.html>. Diakses tanggal 11 Juni 2017.
- Supar. 1997. Mastitis Subklinis pada Sapi Perah di Indonesia: Masalah dan Pendekatannya. *WARTAZOA* 6:2. 51.
- Tegegne, B and Shimels, T. 2017. Bacteriological Milk Quality: Possible Hygienic Factors and The Role Of *Staphylococcus aureus* in Raw Bovine Milk in and Around Gondar, Ethiopia. *Internasional Journal of Food Contamination*. 4:1. 2.
- Toelle, N.N., dan Viktor, L. 2014. Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus sp.* Dan *Streptococcus sp.* Dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial (Identification and Characteristics of cteristics of *Staphylococcus sp.* and *Streptococcus sp.* of Ovary in Commercial Layers). *Jurnal Ilmu Ternak* 1:7. 35.
- Tyasningsih, W., Ratih, R., Erni, R.S.I., Suryanie., Hasutji, E.N., Sri, C., dan Didik, H. 2010. Buku Ajar Penyakit Infeksius I. Airlangga University Press: Surabaya.
- Wattimena, J.R., Nelly, C.S., Mathilda, B.W., Elin, Y.S., Andreanus, A.S dan Anna, R.S. 1991. Farmakodinami dan Terapi Anti Biotik. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta. 48-49.

Lampiran 1. Tabel Perhitungan Diameter Sensitivitas Antibiotik

| sampel | Doksisiklin (mm) | | | Σ | Penisilin (mm) | | | Σ | Gentamisin (mm) | | | Σ | Eritromisin (mm) | | | Σ |
|--------|---------------------|----|----|----------|-------------------|----|----|----------|--------------------|----|----|----------|---------------------|----|----|----------|
| S1 | 33 | 33 | 33 | 33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25 | 29 | 27 | 27 | 10 | 9 | 10 | 9,6 |
| S2 | 35 | 34 | 36 | 35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 30 | 29 | 29 | 29 | 15 | 13 | 15 | 14 |
| S3 | 31 | 30 | 30 | 30 | 20 | 20 | 22 | 21 | 24 | 22 | 23 | 23 | 33 | 33 | 30 | 32 |
| S4 | 30 | 31 | 30 | 30 | 23 | 25 | 26 | 25 | 26 | 28 | 27 | 27 | 33 | 33 | 30 | 32 |
| S5 | 33 | 33 | 33 | 33 | 28 | 30 | 30 | 29 | 21 | 25 | 27 | 24 | 34 | 33 | 33 | 33 |
| S6 | 32 | 32 | 33 | 32 | 35 | 35 | 35 | 35 | 19 | 18 | 17 | 18 | 4 | 3 | 4 | 3,6 |

Keterangan:

Σ : rata-rata (dalam satuan mm)

Lampiran 2. Media yang Digunakan dalam Penelitian

| | |
|---------------------------------------|------------|
| 1. Formula Mannitol Salt Agar: | gram/liter |
| Lab-Lemco Powder | 1 |
| Peptone | 10 |
| Mannitol | 10 |
| Sodium Chloride | 75 |
| Phenol red | 0,025 |
| Agar | 15 |
| pH 7,5 ± 0,2 | |
| 2. Formula Nutrient Broth | gram/liter |
| Lab-Lemco powder | 1 |
| Yeast extract | 2 |
| Peptone | 5 |
| Sodium chloride | 5 |
| pH 7,4 ± 0,2 | |
| 3. Formula <i>Mueller Hinton Agar</i> | gram/liter |
| Beef infusion form | 300 |
| Acidase peptone | 17,5 |
| Starch | 1,5 |
| Agar | 17 |

Lampiran 3. Cara Pembuatan Media Agar

Cara kerja:

1. Larutkan media yang dibutuhkan ke dalam air
2. Panaskan sambil diaduk hingga larut sempurna
3. Sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 20 menit
4. Tuangkan larutan tersebut secara steril ke dalam cawan petri steril dengan volume yang dibutuhkan
5. Biarkan media menjadi dingin
6. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam
7. Simpan media di lemari es sampai diperlukan

Lampiran 4. Cara Pembuatan Nutrient Broth

Cara kerja:

1. Larutkan media ke dalam air aquadest
2. Sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 20 menit
3. Tuangkan larutan tersebut ke dalam tabung
4. Biarkan media menjadi dingin
5. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam
6. Simpan media dalam lemari es sampai diperlukan

Lampiran 5. Cara Uji Koagulase**Alat dan Bahan:**

- Media nutrient broth
- Isolat bakteri
- Tabung reaksi
- Plasma kelinci
- Sduit 1 ml
- Alat pembakar bunsen

Cara kerja:

1. Siapkan media nutrient broth.
2. Ambil isolat bakteri menggunakan ose, kemudian masukkan ke dalam media Nutrient Broth dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
3. Siapkan plasma kelinci.
4. Masukkan 1 ml plasma kelinci ke dalam Nutrient Broth yang sudah berisi bakteri menggunakan sduit.
5. Inkubasi selama 4 jam pertama untuk melihat hasilnya, bila masih belum menunjukkan koagulase positif inkubasi dilanjutkan sampai 24 jam.

Lampiran 6. Pewarnaan Gram

Alat dan bahan:

- gelas alas
- ose
- alat pembakar bunsen
- suspensi/isolat kuman
- kristal violet
- lugol
- alkohol 95% / alcohol acetone
- safranin

Cara kerja:

1. buat sediaan ulas dan fiksasi di atas api sampai kering
2. warnai dengan kristal violet selama 2 menit
3. buang sisa zat warna dan cuci dengan air kran
4. tuangkan larutan lugol dan biarkan selama 1 menit
5. buang sisa lugol dari gelas alas dan cuci dengan air
6. lunturkan dengan alkohol 95% atau alkohol acetone selama 10-30 detik
7. cuci dengan air kran
8. tuangkan safranin pada gelas alas dan biarkan selama 2 menit
9. buang sisa safranin dan cuci dengan air kran
10. keringkan dengan kertas saring
11. tetesi sediaan dengan minyak emersi lalu lihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian



Tabung Reaksi



Labu Erlenmeyer



Pemeriksaan isolat di bawah mikroskop



Larutan untuk pewarnaan Gram



bunsen